

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-157294

(43) 公開日 平成9年(1997)6月17日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 14/635	Z N A		C 0 7 K 14/635	Z N A
A 6 1 K 38/22	A B J		A 6 1 K 37/24	A B J
	A D D			A D D
	A E G			A E G

// C 0 7 K 105:00

審査請求 未請求 請求項の数36 O L (全 26 頁)

(21) 出願番号	特願平8-151984	(71) 出願人	000002934 武田薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
(22) 出願日	平成8年(1996)6月13日	(72) 発明者	福田 常彦 京都府京都市西京区大原野西境谷町2丁目 9番10-202号
(31) 優先権主張番号	特願平7-148652	(72) 発明者	中河 静枝 大阪府大阪市住之江区南港中5丁目6番23 -709号
(32) 優先日	平7(1995)6月15日	(72) 発明者	巾下 純子 京都府長岡京市神足3丁目14番5-101号
(33) 優先権主張国	日本 (J P)	(72) 発明者	武富 滋久 大阪府池田市鉢塚3丁目11番11号
		(74) 代理人	弁理士 大多和 明敏 (外1名)

(54) 【発明の名称】 副甲状腺ホルモン誘導体

(57) 【要約】

【課題】優れた特性を有するヒト副甲状腺ホルモン (P T H) (1-34) 誘導体を提供する。

【解決手段】P T H (1-34) の10位のアミノ酸を酸性アミノ酸で置換したP T H誘導体、10位の置換に加えて更に11位、更に12位、13位、14位、15位、16位、17位、19位、21位、26位、27位、30位または34位の1ないしそれ以上を他のアミノ酸残基で置換したP T H誘導体。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】アミノ酸配列

Ser-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His- $R_1$ - $R_2$ - $R_3$ - $R_4$ - $R_5$ - $R_6$ - $R_7$ -Met- $R_8$ -Arg- $R_9$ -Glu-Trp-Leu-Arg- $R_{10}$ - $R_{11}$ -Leu-Gln- $R_{12}$ -Val-His-Asn- $R_{13}$

〔式中、 $R_1$ は酸性アミノ酸を、

$R_2$ は疎水性 $\alpha$ -アミノ酸又は塩基性アミノ酸を、

$R_3$ はGlyあるいはDもしくはL体のAla, Ser, Lys, Orn又はTrpを、

$R_4$ は塩基性アミノ酸を、

$R_5$ は塩基性アミノ酸を、

$R_6$ は脂肪族中性アミノ酸又は塩基性アミノ酸を、

$R_7$ は非荷電親水性アミノ酸、塩基性アミノ酸又はそれらの組み合わせからなるジペプチドを、

$R_8$ は酸性アミノ酸又は塩基性アミノ酸を、

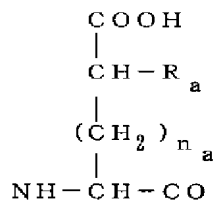
$R_9$ は脂肪族中性アミノ酸又は塩基性アミノ酸を、

$R_{10}$ は塩基性アミノ酸を、

$R_{11}$ は非荷電親水性アミノ酸又は塩基性アミノ酸を、 $R_{12}$ は酸性アミノ酸又は脂肪族中性アミノ酸を、 $R_{13}$ は芳香族アミノ酸、ヒトPTH(34-35), (34-36), (34-37), (34-38), (34-39)もしくは(34-40)位に相当するペプチド、又は35位-45位間のアミノ酸の少なくとも1つがDもしくはL体のCysに置換されていてもよい(34-84)位に相当するペプチド配列を示し、それらの芳香族アミノ酸およびペプチドのC末端アミノ酸のカルボキシル基はそれぞれアミド化されていてもよい。〕で表わされるペプチド又はその塩。

【請求項2】 $R_1$ が式

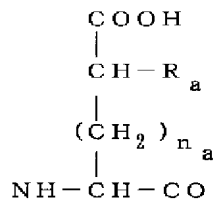
【化1】



〔式中、 $R_a$ はH, OHまたはCOOHを、 $n_a$ は0ないし4の整数を示す。〕で表される酸性アミノ酸である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項3】 $R_1$ が式

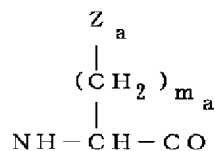
【化2】



〔式中、 $R_a$ はH, OHまたはCOOHを、 $n_a$ は0ないし4の整数を示す。〕で表される酸性アミノ酸であり、 $R_2$ がAla, Val, Leu, Ile, Pro, Me

t, Phe, Trp, Tyr, Nle, ナフチルアラニン, 4-クロルフェニルアラニン又は式

【化3】

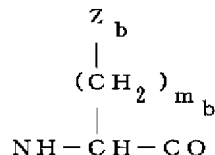


〔式中、 $Z_a$ は $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_a$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、

$R_3$ がGlyあるいは、DもしくはL体のAla, Ser, Lys, Orn又はTrpであり、

$R_4$ が式

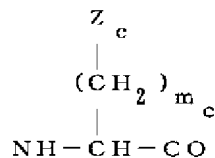
【化4】



〔式中、 $Z_b$ は $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_b$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、

$R_5$ が式

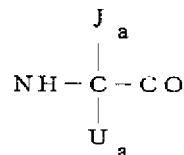
【化5】



〔式中、 $Z_c$ は $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_c$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、

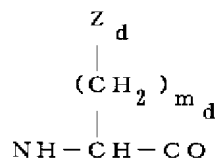
$R_6$ が式

【化6】



〔式中、 $J_a$ および $U_a$ はそれぞれH又は炭素数1~4のアルキル基を示す。〕で表される脂肪族中性アミノ酸又は式

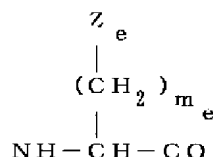
【化7】



〔式中、 $Z_d$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_d$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、

$R_7$ が(1) Gly、(2) LもしくはD体の Ser、Thr、Cys、Asn又はGln、(3) 式

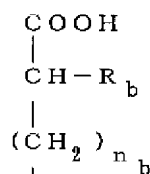
【化8】



〔式中、 $Z_e$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_e$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸、あるいは(4) それらの組み合わせからなるジペプチドであり、

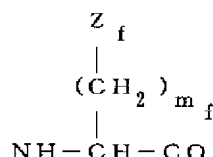
$R_8$ が式

【化9】



〔式中、 $R_b$ はH、OH又はCOOHを、 $n_b$ は0ないし4の整数を示す。〕で表される酸性アミノ酸又は式

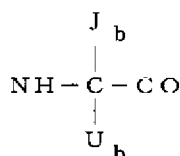
【化10】



〔式中、 $Z_f$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_f$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、

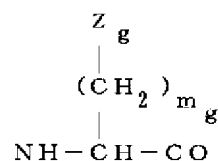
$R_9$ が式

【化11】



〔式中、 $J_b$ および $U_b$ はそれぞれH又は炭素数1～4のアルキル基を示す。〕で表される脂肪族中性アミノ酸又は式

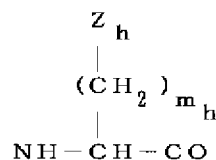
【化12】



〔式中、 $Z_g$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_g$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、

$R_{10}$ が式

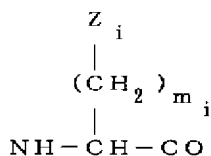
【化13】



〔式中、 $Z_h$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_h$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、

$R_{11}$ が(1) Gly、(2) LもしくはD体の Ser、Thr、Cys、Asn又はGln、(3) 式

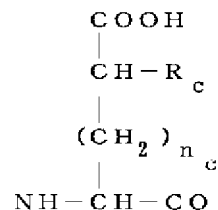
【化14】



〔式中、 $Z_i$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_i$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、

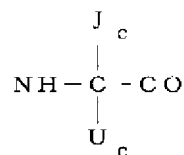
$R_{12}$ が式

【化15】



〔式中、 $R_c$ はH、OH又はCOOHを、 $n_c$ は0ないし4の整数を示す。〕で表される酸性アミノ酸又は式

【化16】



〔式中、 $J_c$ および $U_c$ はそれぞれH又は炭素数1～4のアルキル基を示す。〕で表される脂肪族中性アミノ酸であり、

$R_{13}$ がC末端アミノ酸のカルボキシル基がアミド基もし

くはN-C<sub>1-4</sub>アルキルアミド基に置換されていてもよいPhe, Tyr, Phe-Val, Phe-Val-Ala, Phe-Val-Ala-Leu, Phe-Val-Ala-Leu-Gly, Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala, Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro, 又は配列中の2番目から12番目の間のアミノ酸の少なくとも1つがDもしくはL体のCysに置換されていてもよいPhe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro-Leu-Ala-Pro-Arg-Asp-Ala-Gly-Ser-Gln-Arg-Pro-Arg-Lys-Lys-Glu-Asp-Asn-Val-Leu-Val-Glu-Ser-His-Glu-Lys-Ser-Leu-Gly-Glu-Ala-Asp-Lys-Ala-Asp-Val-Asn-Val-Leu-Thr-Lys-Ala-Lys-Ser-Glnである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項4】R<sub>1</sub>がAsp, Glu, アミノアジピン酸, アミノスベリン酸又は4-カルボキシグルタミン酸である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項5】R<sub>1</sub>がAsp, Gluである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項6】R<sub>2</sub>がLeu, Phe, Lys又はナフチルアラニンである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項7】R<sub>2</sub>がLeu, Phe又はLysである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項8】R<sub>3</sub>がGly, D-Trp, D-Ala又はD-Serである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項9】R<sub>3</sub>がGly, D-Ala又はD-Serである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項10】R<sub>4</sub>がLys又はOrnである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項11】R<sub>5</sub>がHis又はLysである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項12】R<sub>6</sub>がHisである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項13】R<sub>6</sub>がLeuまたはLysである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項14】R<sub>6</sub>がLeuである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項15】R<sub>7</sub>がAsn-Ser, Lys-Lys, Asn-Lys, Lys-Ser又はSer-Serである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項16】R<sub>7</sub>がAsn-Ser, Lys-Lys, Lys-Ser又はSer-Serである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項17】R<sub>8</sub>がGlu又はArgである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項18】R<sub>8</sub>がVal又はArgである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項19】R<sub>10</sub>がLys又はArgである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項20】R<sub>11</sub>がLys又はGlnである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項21】R<sub>12</sub>がAsp又は2-アミノイソ酪酸である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項22】R<sub>13</sub>がPheである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項23】R<sub>1</sub>がAsp, Glu, アミノアジピン酸, アミノスベリン酸又は4-カルボキシグルタミン酸であり、

R<sub>2</sub>がLeu, Phe, Lys又はナフチルアラニンであり、

R<sub>3</sub>がGly, D-Trp, D-Ala又はD-Serであり、

R<sub>4</sub>がLys又はOrnであり、

R<sub>5</sub>がHis又はLysであり、

R<sub>6</sub>がLeu又はLysであり、

R<sub>7</sub>がAsn-Ser, Lys-Lys, Asn-Lys, Lys-Ser又はSer-Serであり、

R<sub>8</sub>がGlu又はArgであり、

R<sub>9</sub>がVal又はArgであり、

R<sub>10</sub>がLys又はArgであり、

R<sub>11</sub>がLys又はGlnであり、

R<sub>12</sub>がAsp又は2-アミノイソ酪酸でありR<sub>13</sub>がPheである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項24】R<sub>1</sub>が酸性アミノ酸であり、

R<sub>2</sub>が疎水性α-アミノ酸又は塩基性アミノ酸であり、

R<sub>3</sub>がGlyあるいはDもしくはL体のAla, Ser, Lys又はOrnであり、

R<sub>4</sub>がLysであり、

R<sub>5</sub>がHisであり、

R<sub>6</sub>がLeuであり、

R<sub>7</sub>が非荷電親水性アミノ酸、塩基性アミノ酸又はそれらの組み合わせからなるジペプチドであり、

R<sub>8</sub>がGluであり、

R<sub>9</sub>がValであり、

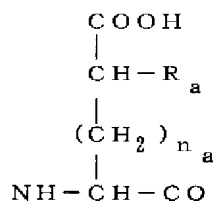
R<sub>10</sub>がLysであり、

R<sub>11</sub>が非荷電親水性アミノ酸又は塩基性アミノ酸であり、

R<sub>12</sub>がAspでありR<sub>13</sub>が芳香族アミノ酸、ヒトPTH(34-35), (34-36), (34-37), (34-38), (34-39)もしくは(34-40)位に相当するペプチド、又は35位-45位間のアミノ酸の少なくとも1つがDもしくはL体のCysに置換されていてもよい(34-84)位に相当するペプチド配列を示し、それらの芳香族アミノ酸およびペプチドのC末端アミノ酸のカルボキシル基はそれぞれアミド化されていてもよい。]である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

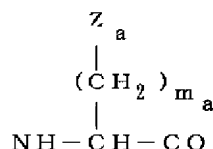
【請求項25】R<sub>1</sub>が式

【化17】



〔式中、 $\text{R}_a$ はH、OHまたはCOOHを、 $n_a$ は0ないし4の整数を示す。〕で表される酸性アミノ酸を、 $\text{R}_2$ がAla, Val, Leu, Ile, Pro, Met, Phe, Trp, Tyr, Nle, ナフチルアラニン、4-クロロフェニルアラニン又は式

【化18】



〔式中、 $\text{Z}_a$ は $\text{NH}_2$ 、 $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_a$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、

$\text{R}_3$ がGlyあるいは、DもしくはL体のAla, Ser, Lys又はOrnであり、

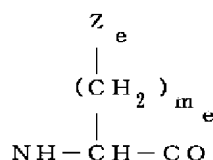
$\text{R}_4$ がLysであり、

$\text{R}_5$ がHisであり、

$\text{R}_6$ がLeuであり、

$\text{R}_7$ が(1) Gly、(2) LもしくはD体のSer, Thr, Cys, Asn又はGln、(3) 式

【化19】



〔式中、 $\text{Z}_e$ は $\text{NH}_2$ 、 $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_e$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸、あるいは(4) それらの組み合わせからなるジペプチドであり、

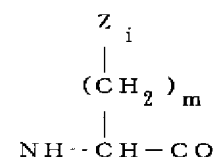
$\text{R}_8$ がGluであり、

$\text{R}_9$ がValであり、

$\text{R}_{10}$ がLysであり、

$\text{R}_{11}$ が(1) Gly、(2) LもしくはD体のSer, Thr, Cys, Asn又はGln、(3) 式

【化20】



〔式中、 $\text{Z}_i$ は $\text{NH}_2$ 、 $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_i$ は1ないし5の整数を示す。〕で表さ

れる塩基性アミノ酸であり、

$\text{R}_{12}$ がAspであり、

$\text{R}_{13}$ がC末端アミノ酸のカルボキシル基がアミド基もしくはN-C<sub>1-4</sub>アルキルアミド基に置換されていてもよいPhe, Tyr, Phe-Val, Phe-Val-Ala, Phe-Val-Ala-Leu, Phe-Val-Ala-Leu-Gly, Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala, Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro, 又は配列中の2番目から12番目の間のアミノ酸の少なくとも1つがDもしくはL体のCysに置換されていてもよいPhe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro-Leu-Ala-Pro-Arg-Asp-Ala-Gly-Ser-Gln-Arg-Pro-Arg-Lys-Lys-Glu-Asp-Asn-Val-Leu-Val-Glu-Ser-His-Glu-Lys-Ser-Leu-Gly-Glu-Ala-Asp-Lys-Ala-Asp-Val-Asn-Val-Leu-Thr-Lys-Ala-Lys-Ser-Glnである請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項26】 $\text{R}_1$ がAsp, Glu, アミノアジピン酸, アミノスベリン酸又は4-カルボキシグルタミン酸である請求項25記載のペプチドまたはその塩。

【請求項27】〔Asp<sup>10</sup>, Lys<sup>11</sup>〕hPTH(1-34)である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項28】〔Glu<sup>10</sup>〕hPTH(1-34)である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項29】〔Glu<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, Lys<sup>16</sup>, Gln<sup>27</sup>〕hPTH(1-34)である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項30】〔Glu<sup>10</sup>, Ser<sup>16</sup>〕hPTH(1-34)である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項31】〔Glu<sup>10</sup>, Orn<sup>13</sup>〕hPTH(1-34)である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項32】〔Glu<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, D-Ala<sup>12</sup>〕hPTH(1-34)である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項33】〔Asp<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>〕hPTH(1-34)である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項34】〔Asp<sup>10</sup>〕hPTH(1-34)である請求項1記載のペプチドまたはその塩。

【請求項35】請求項1記載のペプチド又はその塩を含有することを特徴とする医薬組成物。

【請求項36】請求項1記載のペプチド又はその塩を含有することを特徴とする骨疾患予防・治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は副甲状腺ホルモンの新規な誘導体およびその用途に関するものである。

【0002】

【従来の技術】副甲状腺ホルモン(PTH)は副甲状腺で合成された後、その標的器官である骨、腎臓に作用して、主に血中カルシウムやリン酸イオンの濃度を調節する重要な働きをしている。PTHは84個のアミノ酸からなるペプチドホルモンであるがその生物学的作用はN末端(1-34位)のペプチドフラグメントで再現でき

る事が知られている〔G. W. Tregear ら、エンドクリノロジー (Endocrinology)、93巻、1349-1353頁 (1973)〕。このヒト型PTHのN末端(1-

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17  
H-Ser-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-  
18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34  
Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-OH  
(配列番号: 1)

当該ホルモンの構造活性相関を理解すべくPTH(1-34)フラグメントについて種々の誘導体の合成がなされてきた。従来はウシPTH(1-34)に関する研究が主であったが、最近ではヒトPTH(1-34)に関する研究も多くなってきている。例えばヒトPTH(1-34)のC末端PheをPhe-NH<sub>2</sub>に変換すると活性の上昇が見られる事が知られている(特開昭58-96052)。しかし、これはカルボキシルペプチダーゼによる分解が抑えられ、その結果見かけの活性上昇が観察されたものと思われる。また、ヒトPTH(1-34)にはMetが2残基含まれるが、これらをNleに置換した分子では酸化によるホルモン活性消失が防止されることが知られている(特開昭61-24598)。またF. E. Cohen ら〔ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (The Journal of Biological Chemistry)、266巻、1997-2004頁(1991); WO92/00753〕は、ヒト・ウシPTH(1-34)において、3位Serを種々のL-アミノ酸に置換したが、Ala置換体ではほぼ天然型と同程度の活性を示したほかは他のアミノ酸置換では活性が著しく低下した。又6位、9位のアミノ酸を置換した誘導体でも、医薬として用いるに適する活性を有する誘導体は得られていない。PTH(1-34)の25位-27位の塩基性アミノ酸の連続した配列を他のアミノ酸の配列に置換してもその生物活性は保持される一方で、血圧や平滑筋に対する作用は低下されるという(WO93/06845)。又23位を他のアミノ酸に置換したアナログにも同様の効果があるとされている(WO93/06846)。また特開平6-184198(WO94/02510)では側鎖アミノ基に修飾が施されたアナログの他、種々のアミノ酸置換アナログが開示されている。

【0003】PTHの生物学的作用からして、これを医薬として用いれば種々の骨疾患等に対する有用な医薬品になりうる事が期待されるが、ペプチドが有する次のような性質がそれを困難にしている。1. 体内で種々の酵素により分解を受けやすい。2. 種々の経路における体内への吸収効率が非常に低い。3. 例えば酸化等、種々の物理化学的条件に対し、不安定である。このような問題点を解決すべく、又当該ホルモンの構造活性相関を説明すべく、PTH(1-34)活性フラグメントについて種々の誘導体の合成がなされてきた。これらの化合物の生物活性の測定においては、上記1~3の問題点のど

れかが回避された化合物では、前項で、34位Phe-NH<sub>2</sub>誘導体について述べているように、活性の上昇した誘導体が見られることがある。又、例えばレセプターとの親和性の増大などによって本来の活性の上昇した誘導体は、その高活性によって上記1~3の問題点を補うことができる。

【0004】先に本発明者等は、ヒトPTH(1-34)におけるアミノ酸の置換を化学合成的に実施し、ヒトPTH(1-34)の第1位、8位、11位、12位、13位、18位、19位、21位、23位、25位、26位、27位及び34位のアミノ酸のいずれかに、(1)種々の蛋白質分解酵素に対する抵抗性を考慮したアミノ酸置換を施す事により、(2)また予想される2次元構造や、親水・疎水性もしくはイオンの環境を考慮したアミノ酸置換によって、当該ホルモンの活性を高めることにより、(3)さらには酸、アルカリ性条件、酸化条件等に対して不安定なアミノ酸を、活性を低下させる事なく、これらの条件に対して安定なアミノ酸に置換することによって、この目的が達成されることを見出し、優れたヒトPTH(1-34)誘導体を提出した(特開平05-032696)。又、ヒトPTH(1-34)配列における第3位、14位、15位、16位、17位、25位、26位、27位及び34位のアミノ酸のいずれか、あるいはこれらの置換の組合せよりなる該ペプチド誘導体が優れた活性を有することを見出した(特開平05-320193)。更に、ヒトPTH(1-84)において(34-47)位のアミノ酸のいずれかをCysに置換したペプチド誘導体は、二量体の生成が可能であり、また他の官能基を導入し、より優れた化合物に変換できることを見出した(特開平5-271279)。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】ヒトPTH(1-34)の置換体について、更に特性のすぐれたものを見出すことが、本発明の課題であった。

【0006】

【課題を解決するための手段】今般さらに研究を重ねた結果ヒトPTH(1-34)における第10位のアミノ酸Asnを酸性アミノ酸に置換したものがその特性において優れた誘導体を与える事を見出した。また、この知見を、本発明者らの上記の先の発明の結果と組み合わせる事によりさらに優れた化合物を見出す事に成功し、本

発明を完成させたものである。すなわち本発明は、アミノ酸配列が

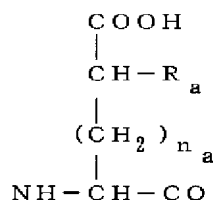
Ser-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His- $R_1$ - $R_2$ - $R_3$ - $R_4$ - $R_5$ - $R_6$ - $R_7$ -Met- $R_8$ -Arg- $R_9$ -Glu-Trp-Leu-Arg- $R_{10}$ - $R_{11}$ -Leu-Gln- $R_{12}$ -Val-His-Asn- $R_{13}$  (配列番号:2)

〔式中、 $R_1$ は酸性アミノ酸を、 $R_2$ は疎水性 $\alpha$ -アミノ酸又は塩基性アミノ酸を、 $R_3$ はGlyあるいはDもしくはL体のAla, Ser, Lys, Orn又はTrpを、 $R_4$ は塩基性アミノ酸を、 $R_5$ は塩基性アミノ酸を、 $R_6$ は脂肪族中性アミノ酸又は塩基性アミノ酸を、 $R_7$ は非荷電親水性アミノ酸、塩基性アミノ酸又はそれらの組み合わせからなるジペプチドを、 $R_8$ は酸性アミノ酸又は塩基性アミノ酸を、 $R_9$ は脂肪族中性アミノ酸又は塩基性アミノ酸を、 $R_{10}$ は塩基性アミノ酸を、 $R_{11}$ は非荷電親水性アミノ酸又は塩基性アミノ酸を、 $R_{12}$ は酸性アミノ酸又は脂肪族中性アミノ酸を、 $R_{13}$ は芳香族アミノ酸、ヒトPTH (34-35), (34-36), (34-37), (34-38), (34-39) もしくは (34-40) 位に相当するペプチド、又は35位-45位間のアミノ酸の少なくとも1つがDもしくはL体のCysに置換されていてもよい (34-84) 位に相当するペプチド配列を示し、それらの芳香族アミノ酸およびペプチドのC末端アミノ酸のカルボキシル基はそれぞれアミド化されていてもよい。〕であるペプチド又はその塩、上記ペプチド又はその塩を含有することを特徴とする医薬組成物、特に上記ペプチド又はその塩を含有することを特徴とする骨疾患予防・治療剤、に関するものである。

【0007】上記定義中、 $R_1 \sim R_{13}$ について更に具体的に説明する。 $R_1$ は天然、非天然を問わず、酸性のアミノ酸であればいずれでもよい。このような酸性アミノ酸としてはとりわけ式

【0008】

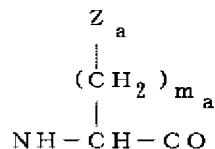
【化21】



【0009】(式中 $R_a$ はH, OHまたはCOOHを、 $n_a$ は0ないし4の整数を示す)で表わされるものが挙げられる。 $R_2$ における疎水性 $\alpha$ -アミノ酸とは、タンパク質を構成するAla, Val, Leu, Ile, Pro, Metなどの側鎖に置換されていてもよいアルキル基を有するアミノ酸、もしくはPhe, Trp, Tyrなどの芳香族アミノ酸の他、Nle (ノルロイシン)、ナフトアラニン、4-クロロフェニルアラニン等タンパク質を構成しないアミノ酸も含まれる。 $R_2$ における塩基性アミノ酸は天然、非天然を問わず、塩基性のアミノ酸であればいずれでもよく、とりわけ式

【0010】

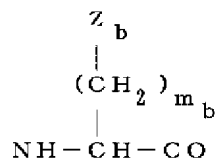
【化22】



【0011】〔式中 $Z_a$ は $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_a$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸が挙げられる。 $R_3$ はGlyあるいは、DもしくはL体のAla, Ser, Lys, Orn又はTrpである。 $R_4$ における塩基性アミノ酸は天然、非天然を問わず、塩基性のアミノ酸であればいずれでもよく、とりわけ式

【0012】

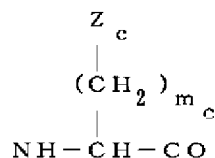
【化23】



【0013】〔式中、 $Z_b$ は $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_b$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸が挙げられる。 $R_5$ における塩基性アミノ酸は天然、非天然を問わず、塩基性のアミノ酸であればいずれでもよく、とりわけ式

【0014】

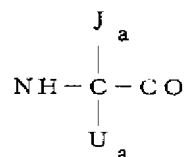
【化24】



【0015】〔式中、 $Z_c$ は $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_c$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸が挙げられる。 $R_6$ における脂肪族中性アミノ酸は天然、非天然を問わず、脂肪族中性のアミノ酸であればいずれでもよく、とりわけ式

【0016】

【化25】

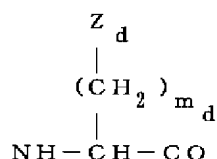


【0017】〔式中、 $J_a$ および $U_a$ はそれぞれH又は炭素数1~4のアルキル基を示す。〕で表される脂肪族中性アミノ酸が挙げられる。又 $R_6$ は塩基性アミノ酸であ

ることもでき、その場合天然、非天然を問わず、塩基性のアミノ酸であればいずれでもよく、とりわけ式

【0018】

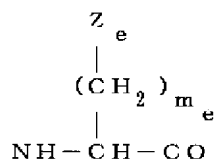
【化26】



【0019】〔式中、 $Z_d$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_d$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸が挙げられる。 $R_7$ のジペプチドを構成する非荷電親水性アミノ酸としては(1) Gly、(2) LもしくはD体の Ser、Thr、Cys、Asn又はGlnが具体的には挙げられ、(3) 塩基性アミノ酸としては天然、非天然を問わず、塩基性のアミノ酸であればいずれでもよいが、とりわけ式

【0020】

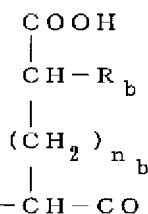
【化27】



【0021】〔式中、 $Z_e$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_e$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸が挙げられる。 $R_7$ としては上記(1)、(2)又は(3)の外、(4)それらの組み合わせからなるジペプチドが挙げられる。 $R_8$ の酸性アミノ酸としては天然、非天然を問わず、酸性のアミノ酸であればいずれでもよいが、とりわけ式

【0022】

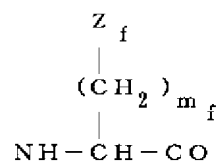
【化28】



【0023】〔式中、 $R_b$ はH、OH又はCOOHを、 $n_b$ は0ないし4の整数を示す。〕で表される酸性アミノ酸が挙げられ、又塩基性アミノ酸としては天然、非天然を問わず、塩基性のアミノ酸であればいずれでもよいが、とりわけ式

【0024】

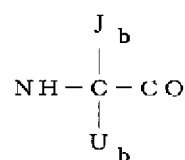
【化29】



【0025】〔式中、 $Z_f$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_f$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸が挙げられる。 $R_9$ の脂肪族中性アミノ酸としては天然、非天然を問わず、脂肪族中性のアミノ酸であればいずれでもよいが、とりわけ式

【0026】

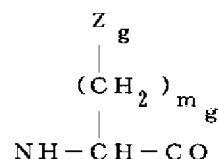
【化30】



【0027】〔式中、 $J_b$ および $U_b$ はそれぞれH又は炭素数1～4のアルキル基を示す。〕で表される脂肪族中性アミノ酸が挙げられる。又塩基性アミノ酸としては天然、非天然を問わず、塩基性のアミノ酸であればいずれでもよいが、とりわけ式

【0028】

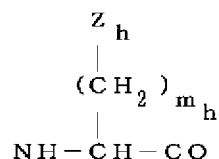
【化31】



【0029】〔式中、 $Z_g$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_g$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸が挙げられる。 $R_{10}$ における塩基性アミノ酸は天然、非天然を問わず、塩基性のアミノ酸であればいずれでもよく、とりわけ式

【0030】

【化32】



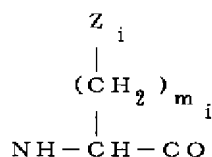
【0031】〔式中、 $Z_h$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_h$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸が挙げられる。 $R_{11}$ の非荷電親水性アミノ酸としては(1) Gly、(2) LもしくはD体の Ser、Thr、Cys、Asn又はGlnが具体的には挙げられ、(3) 塩基性アミノ酸としては天然、非天然を問わず、塩基性のアミノ酸であれば



いずれでもよいが、とりわけ式

【0032】

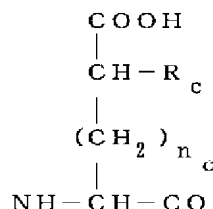
【化33】



【0033】〔式中、 $Z_i$ は $NH_2$ 、 $NHC(NH)NH_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_i$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸が挙げられる。 $R_{12}$ の酸性アミノ酸としては天然、非天然を問わず、酸性のアミノ酸であればいずれでもよいが、とりわけ式

【0034】

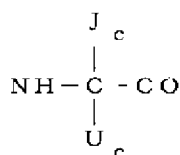
【化34】



【0035】〔式中、 $R_c$ はH、OH又はCOOHを、 $n_c$ は0ないし4の整数を示す。〕で表される酸性アミノ酸が挙げられ、又 $R_{12}$ は脂肪族中性アミノ酸であってもよく、脂肪族中性アミノ酸としては天然、非天然を問わず、脂肪族中性のアミノ酸であればいずれでもよいが、とりわけ式

【0036】

【化35】



【0037】〔式中、 $J_c$ および $U_c$ はそれぞれH又は炭素数1～4のアルキル基を示す。〕で表される脂肪族中性アミノ酸が挙げられる。 $R_{13}$ はC末端アミノ酸のカルボキシル基がアミド基もしくは $N-C_{1-4}$ アルキルアミド基に置換されていてもよいPhe、Tyr、Phe-Val、Phe-Val-Ala、Phe-Val-Ala-Leu(配列番号:3)、Phe-Val-Ala-Leu-Gly(配列番号:4)、Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala(配列番号:5)、Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro(配列番号:6)、又は配列中の2番目から12番目の間のアミノ酸の少なくとも1つがDもしくはL体のCysに置換されていてもよいPhe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro-Leu-Ala-Pro-Arg-Asp-Ala-Gly-Ser-Gln-Arg-Pro-Arg-Lys-Lys-Glu-Asp-Asn-Val-Leu-Val-Glu-Ser-His-Glu-Lys-Ser-Leu-Gly-Glu-Ala-Asp-Lys-Ala-Asp-Val-Asn-Val-Leu-Thr-Lys-Ala-Lys-Ser-Gln(配列番号:7)であるものが挙げられる。

【0038】 $R_1 \sim R_{13}$ についてより具体的に説明す

る。 $R_1$ の具体例としてはAsp、Glu、アミノアジピン酸、アミノスベリン酸又は4-カルボキシグルタミン酸が挙げられ、中でもAsp、Gluであるものが好ましいものとして挙げられる。 $R_2$ の具体例としてはLeu、Phe、Lys又はナフチルアラニンが挙げられ、中でも好ましいものとしてLeu、Phe又はLysが挙げられる。 $R_3$ の具体例としてはGly、D-Trp、D-Ala又はD-Serが挙げられ、中でも好ましいものとしてGly、D-Ala又はD-Serが挙げられる。 $R_4$ の具体例としてはLys又はOrnが挙げられる。 $R_5$ の具体例としてはHis又はLysが挙げられ、中でも好ましいものとしてHisが挙げられる。 $R_6$ の具体例としてはLeu又はLysが挙げられ、中でも好ましいものとしてLeuが挙げられる。 $R_7$ の具体例としてはAsn-Ser、Lys-Lys、Asn-Lys、Lys-Ser又はSer-Serが挙げられ、中でも好ましいものとしてAsn-Ser、Lys-Lys、Lys-Ser又はSer-Serが挙げられる。 $R_8$ の具体例および好ましい例としてGlu又はArgが挙げられる。 $R_9$ の具体例および好ましい例としてVal又はArgが挙げられる。 $R_{10}$ の具体例および好ましい例としてLys又はArgが挙げられる。 $R_{11}$ の具体例および好ましい例としてLys又はGlnが挙げられる。 $R_{12}$ の具体例および好ましい例としてAsp又は2-アミノイソ酪酸が挙げられる。

【0039】 $R_{13}$ の具体例および好ましい例としてPheが挙げられる。

【0040】本発明のペプチドまたはその塩の具体例として、配列番号:2中、 $R_1$ がAsp、Glu、アミノアジピン酸、アミノスベリン酸又は4-カルボキシグルタミン酸であり、 $R_2$ がLeu、Phe、Lys又はナフチルアラニンであり、 $R_3$ がGly、D-Trp、D-Ala又はD-Serであり、 $R_4$ がLys又はOrnであり、 $R_5$ がHis又はLysであり、 $R_6$ がLeu又はLysであり、 $R_7$ がAsn-Ser、Lys-Lys、Asn-Lys、Lys-Ser又はSer-Serであり、 $R_8$ がGlu又はArgであり、 $R_9$ がVal又はArgであり、 $R_{10}$ がLys又はArgであり、 $R_{11}$ がLys又はGlnであり、 $R_{12}$ がAsp又は2-アミノイソ酪酸であり $R_{13}$ がPheであるものが挙げられる。

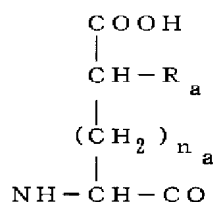
【0041】本発明のペプチドまたはその塩の具体例として、配列番号:2中、 $R_1$ が酸性アミノ酸であり、 $R_2$ が疎水性 $\alpha$ -アミノ酸又は塩基性アミノ酸であり、 $R_3$ がGlyあるいはDもしくはL体のAla、Ser、Lys又はOrnであり、 $R_4$ がLysであり、 $R_5$ がHisであり、 $R_6$ がLeuであり、 $R_7$ が非荷電親水性アミノ酸、塩基性アミノ酸又はそれらの組み合わせからなるジペプチドであり、 $R_8$ がGluであり、 $R_9$ がValであり、 $R_{10}$ がLysであり、 $R_{11}$ が非荷電親水性アミノ

酸又は塩基性アミノ酸であり、 $R_{12}$ がAspであり $R_{13}$ が芳香族アミノ酸、ヒトPTH(34-35), (34-36), (34-37), (34-38), (34-39)もしくは(34-40)位に相当するペプチド、又は35位-45位間のアミノ酸の少なくとも1つがDもしくはL体のCysに置換されていてもよい(34-84)位に相当するペプチド配列を示し、それらの芳香族アミノ酸およびペプチドのC末端アミノ酸のカルボキシル基はそれぞれアミド化されていてもよい。)であるものが挙げられる。

【0042】本発明のペプチドまたはその塩の具体例として、配列番号: 2中、 $R_1$ が式

【0043】

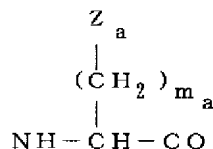
【化36】



【0044】〔式中、 $R_a$ はH, OHまたはCOOHを、 $n_a$ は0ないし4の整数を示す。〕で表される酸性アミノ酸を、 $R_2$ がAla, Val, Leu, Ile, Pro, Met, Phe, Trp, Tyr, Nle, ナフチルアラニン, 4-クロルフェニルアラニン又は式

【0045】

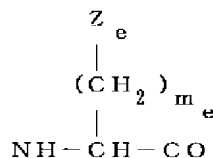
【化37】



【0046】〔式中、 $Z_a$ は $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_a$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、 $R_3$ がGlyあるいは、DもしくはL体のAla, Ser, Lys又はOrnであり、 $R_4$ がLysであり、 $R_5$ がHisであり、 $R_6$ がLeuであり、 $R_7$ が(1)Gly、(2)LもしくはD体のSer, Thr, Cys, Asn又はGln、(3)式

【0047】

【化38】

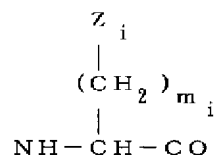


【0048】〔式中、 $Z_e$ は $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_e$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸、あるいは(4)それ

らの組み合わせからなるジペプチドであり、 $R_8$ がGluであり、 $R_9$ がValであり、 $R_{10}$ がLysであり、 $R_{11}$ が(1)Gly、(2)LもしくはD体のSer, Thr, Cys, Asn又はGln、(3)式

【0049】

【化39】



【0050】〔式中、 $Z_i$ は $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ 又はイミダゾリル基を、 $m_i$ は1ないし5の整数を示す。〕で表される塩基性アミノ酸であり、 $R_{12}$ がAspであり、 $R_{13}$ がC末端アミノ酸のカルボキシル基がアミド基もしくはN-C1-4アルキルアミド基に置換されていてもよいPhe, Tyr, Phe-Val, Phe-Val-Ala, Phe-Val-Ala-Leu, Phe-Val-Ala-Leu-Gly, Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala, Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro, 又は配列中の2番目から12番目の間のアミノ酸の少なくとも1つがDもしくはL体のCysに置換されていてもよいPhe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro-Leu-Ala-Pro-Arg-Asp-Ala-Gly-Ser-Gln-Arg-Pro-Arg-Lys-Lys-Glu-Asp-Asn-Val-Leu-Val-Glu-Ser-His-Glu-Lys-Ser-Leu-Gly-Glu-Ala-Asp-Lys-Ala-Asp-Val-Asn-Val-Leu-Thr-Lys-Ala-Lys-Ser-Glnである、ものが挙げられ、中でも $R_1$ がAsp, Glu, アミノアジピン酸, アミノスベリン酸又は4-カルボキシグルタミン酸であるペプチドまたはその塩が好ましいものとして挙げられる。アミド化されたカルボキシル基としては例えばアミド基及びN-C<sub>1-4</sub>アルキルアミド基が挙げられ、N-C<sub>1-4</sub>アルキルアミド基としては、例えばメチルアミド、エチルアミド、プロピルアミド、ブチルアミド等があげられる。Ja, Jb, Jc, Ua, Ub又はUcで表わされる炭素数1~4のアルキル基としては例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル及びsec-ブチルが挙げられる。

【0051】本発明の化合物におけるこれらの置換は一ヶ所だけでなく、何ヶ所かの置換の組合せも可能であり、特に4ヶ所までの置換の組合せが好ましい。具体的には、例えば〔Asp<sup>10</sup>, Lys<sup>11</sup>〕hPTH(1-34)

〔Asp<sup>10</sup>〕hPTH(1-34)

〔Glu<sup>10</sup>〕hPTH(1-34)

〔Asp<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>〕hPTH(1-34)

〔Asp<sup>10</sup>, Ala(2-Naph)<sup>11</sup>〕hPTH(1-34)

〔Glu<sup>10</sup>〕hPTH(1-34)メチルアミド

〔Glu<sup>10</sup>, Lys<sup>16,17</sup>〕hPTH(1-34)

〔Glu<sup>10</sup>, Ser<sup>18</sup>〕hPTH(1-34)

[Glu<sup>10</sup>, Tyr<sup>34</sup>] hPTH (1-34)  
 [Glu<sup>10</sup>, Cys<sup>35</sup>] hPTH (1-84)  
 [Glu<sup>10</sup>, Orn<sup>13</sup>] hPTH (1-34)、[Glu<sup>10</sup>, D-Ala<sup>12</sup>] hPTH (1-34)  
 [Glu<sup>10</sup>, Lys<sup>16,17</sup>, Gln<sup>27</sup>] hPTH (1-34)  
 [Glu<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, D-Ala<sup>12</sup>] hPTH (1-34)、[Glu<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, Lys<sup>16</sup>, Gln<sup>27</sup>] hPTH (1-34)、[Glu<sup>10</sup>] hPTH (1-84) 等が挙げられ、中でも [Asp<sup>10</sup>, Lys<sup>11</sup>] hPTH (1-34)、[Glu<sup>10</sup>] hPTH (1-34)、[Glu<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, Lys<sup>16</sup>, Gln<sup>27</sup>] hPTH (1-34)、[Glu<sup>10</sup>, Ser<sup>16</sup>] hPTH (1-34)、[Glu<sup>10</sup>, Orn<sup>13</sup>] hPTH (1-34)、[Glu<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, D-Ala<sup>12</sup>] hPTH (1-34)、[Asp<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>] hPTH (1-34) または [Asp<sup>10</sup>] hPTH (1-34) であるペプチドまたはその塩が、本発明の好ましいものとして挙げられる。

【0052】本発明のペプチド化合物の合成は遺伝子組換え法、もしくは化学合成法により行なうことができる。とりわけ、後者の方法としては、主にペプチド自動合成装置を用いて行う事ができる。遺伝子組換え法によるペプチドの製造については、特開平5-320193、同5-271279、同5-304976号公報等に記載されている。それらを簡単に説明すると以下の通りである。遺伝子組換え法で本発明の副甲状腺ホルモン誘導体を製造するためには、ヒトPTH (1-84) のアミノ酸配列をコードする遺伝子〔例えばヨーロッパ特許出願公開483509号公報〕あるいはそのC末欠損体に相当するアミノ酸配列をコードする遺伝子を、従来のDNA技術、例えば特定部位指向性変異誘発技術を用いて目的の誘導体をコードする遺伝子に変換する。特定部位指向性変異誘発技術は周知であり、アール・エフ・レイサー (Lather, R.F.) 及びジェイ・ピー・レコック (Lecoq, J.P.)、ジェネティック・エンジニアリング (Genetic Engineering)、アカデミックプレス社 (1983年) 第31-50頁に示されている。オリゴヌクレオチドに指示された変異誘発はエム・スミス (Smith, M.) 及びエス・ギラム (Gillam, S.)、ジェネティック・エンジニアリング：原理と方法、プレナムプス社 (1981年) 3巻 1-32頁に示されている。本発明のアミノ酸置換を施した種々の鎖長の副甲状腺ホルモン誘導体をコードする構造遺伝子を製造するためには、たとえば、(a) ヒトPTHあるいはそのC末欠損体の構造遺伝子の1本鎖からなるDNAを突然変異オリゴヌクレオチドプライマーと雑種形成させる、(b) DNAポリメラーゼによりプライマーを伸長させ、突然変異性ヘテロ二量体 (heteroduplex) を形成させる、続いて (c) この突然変異性ヘテロ二量体を複製する、といった方法が

挙げられる。この複製に続いて、突然変異株の鎖の子孫から突然変異株遺伝子を単離し、適当なベクターへ挿入し、このベクターを適当な宿主生物又は細胞の形質転換に使用する。次に、突然変異化された遺伝子を運搬するファージDNAを単離し、プラスミドへ組み込む。このようにクローン化された遺伝子は、発現に適したベクター (ベクター) 中のプロモーターの下流に連結して発現型ベクターを得ることができる。ベクターとしては、大腸菌由来のプラスミド (例、pBR322、pBR325、pUC12、pUC13)、枯草菌由来プラスミド (例、pUB110、pTP5、pC194)、酵母由来プラスミド (例、pSH19、pSH15)、あるいは入ファージなどのバクテリオファージおよびレトロウイルス、ワクシニアウイルスなどの動物ウイルスなどがあげられる。該遺伝子はその5'末端に翻訳開始コドンとしてのATGを有し、また3'末端には翻訳終止コドンとしてのTAA、TGAまたはTAGを有していてもよい。さらに該遺伝子を発現させるにはその上流にプロモーターを接続する。本発明で用いられるプロモーターとしては、遺伝子の発現に用いる宿主に対応して適切なプロモーターであればいかなるものであってもよい。

【0053】このようにして構築された本発明の副甲状腺ホルモン誘導体をコードする塩基配列を有する組換えDNAを含むベクターを用いて、該ベクターを保持する形質転換体を製造する。宿主としては、たとえばエシェリキア属菌、バチルス属菌、酵母、動物細胞などが挙げられる。得られた副甲状腺ホルモン誘導体をコードする塩基配列を有する組換えDNAを含むベクターを保持する形質転換体を培地に培養することにより、副甲状腺ホルモン誘導体を産出させる。上記培養物から副甲状腺ホルモン誘導体を分離精製するには、例えば下記の方法により行うことができる。まず、培養菌体あるいは細胞を破壊し内容物を抽出する。これには、フレンチプレス、超音波、リゾチーム、凍結融解、ガラスビーズなどを用いることができる。菌体、あるいは細胞を破壊する際に、緩衝液中に1M〜8Mの尿素や、1M〜6Mの塩酸グアニジンを加えてもよく又、ジチオスレイトールなどの還元剤を添加すると、目的とする副甲状腺ホルモン誘導体の回収率が上がることがある。還元剤は、リゾチームを作用させた後に添加する。次に、上記細胞抽出液を、遠心分離により上清と沈殿に分ける。上清に副甲状腺ホルモン誘導体が回収されている場合は、たとえば、M. Iwaneらの文献〔バイオケミカル・バイオフィジカル・リサーチ・コミュニケーション (Biochem. Biophys. Res. Commun.) 146, 470-477 (1987)〕に記載の方法と同様な方法により、有効に精製できる。副甲状腺ホルモン誘導体が沈殿に回収される場合は、この沈殿を塩酸グアニジンや尿素などの蛋白質変性剤を含む溶液で溶解した後に、透析または希釈により変性剤の濃度を下げれば、生理活性を有する副甲状腺ホルモン誘導体を得るこ

とができる。沈殿から回収した副甲状腺ホルモン誘導体は、必要に応じて精製操作を加えることにより、上清から回収された副甲状腺ホルモン誘導体と同様に高純度で高活性な製品となる。更なる分離精製手段としては、ゲルろ過、陽イオン交換樹脂もしくは陰イオン交換樹脂を用いるイオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、分配吸着クロマトグラフィーなどのカラムクロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーが挙げられる。

【0054】ペプチド自動合成装置を用いる基本的な合成は例えばR. B. Merrifield〔アドバンシズ・イン・エンザイモロジー (Advances in Enzymology) 32, 221-296 (1969)〕の方法に準じて行なうことができる。この方法は、カルボキシル末端のアミノ酸を樹脂担体に共有結合させておき、アミノ基の保護基の除去、保護アミノ酸の縮合を順次繰り返して、アミノ末端に向けてペプチド鎖を延長させ目的のアミノ酸配列を有する保護ペプチド樹脂を得る事をその原理としている。各アミノ酸の縮合やアミノ基の保護基の除去などは、ほぼ同一の条件でなされ、中間体の精製も行なわない為、合成に際しては一般に高度な熟練は要求されない。しかもこの方法は迅速であり、種々のペプチドを合成するに際し、非常に便利な方法である。こうして得られた保護ペプチド樹脂を、例えば無水フッ化水素、トリフルオロメタンスルホン酸もしくはトリフルオロ酢酸と種々の添加物の共存下に反応させる事により、ペプチドの樹脂からの脱離と全保護基の除去を一段階で行うことができる。ペプチド自動合成装置としては、通常それぞれの装置のプロトコルに従い条件は設定できる。得られたペプチド粗製物は、ペプチドまたは蛋白質を精製する公知の手段で精製することができる。例えばゲルろ過、陽イオン交換、もしくは陰イオン交換樹脂を用いるイオン交換クロマトグラフィー、さらには疎水クロマトグラフィー、分配吸着クロマトグラフィー等、種々の原理によるカラムクロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーが挙げられる。

【0055】本発明のペプチドは種々の塩の形で得ることができる。塩としては、生理学的に許容される塩又は原料として使用可能な塩等が用いられ、例えば、無機酸又は有機酸、酢酸、酒石酸もしくはクエン酸などの有機酸との塩、ナトリウム又はアンモニウムなどの無機塩基又はトリエチルアミン、エチルアミンもしくはメチルアミン等の有機塩基との塩が挙げられる。本目的物が遊離の状態を得られる場合には、常法に従って塩に変換しても良く、また目的物が塩として得られる場合には、常法に従って遊離体又は他の塩に変換することもできる。

【0056】本発明の一般式で表わされるヒトPTH (1-34) 誘導体ペプチドは、低毒性であり、安全なので、単独でもしくは賦形剤等と混合して医薬として使用することができる。医薬としては中でも骨疾患予防・

治療剤、副甲状腺機能低下症の治療剤、高血圧治療剤、更年期障害（他の薬物の使用による更年期様障害も含む）治療剤として用いることができる。骨疾患の予防・治療としては骨形成の改善、すなわち骨におけるカルシウムの固定や、種々の起因による骨粗鬆症（例えば、若年性、閉経の、閉経後の、外傷後の、老齢による、エストロゲン欠乏による、成長ホルモン欠乏による、副甲状腺機能低下による、甲状腺機能亢進による、栄養もしくは代謝障害による、またはコルチコステロイド療法もしくは非働性を原因とする）、骨折、骨格の脱ミネラル化に伴う急性および慢性状態を含む骨障害、骨軟化症、歯根膜の骨喪失または関節炎もしくは骨関節炎による骨喪失、または副甲状腺機能低下症の治療といった骨の疾患の全ての予防又は治療が挙げられる。そしてその剤型としては、注射剤、経鼻吸収剤、直腸吸収剤、腔吸収剤もしくは経皮吸収剤のようなものが挙げられるが、場合により経口投与されることもある。該ペプチドをこのような治療剤として用いる場合、哺乳動物（例えばヒト、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウシ、ブタ、サル等）に対してその有効量が用いられる。一般的には1ng～100μg/体重kgの範囲、好ましくは5～100μg/体重kgの範囲で用いられるが、この厳密な量については当業者によって適宜決められるものである。このペプチドを予防、治療剤として用いる場合には、細菌や発熱物質が存在しないように十分に精製されるが、その方法自体は公知手段に従えばよい。このペプチドを骨粗鬆症などの予防、治療薬として用いる場合、そのままあるいは薬理学的に許容される添加剤と混合したのち、上記注射剤、経鼻吸収剤、直腸吸収剤、腔吸収剤もしくは経皮吸収剤などの剤型で非経口的に投与することができる。注射剤としては静脈注射剤のほか、皮下注射剤、皮内注射剤、筋肉注射剤、点滴注射剤などが含まれる。かかる注射剤は自体公知の方法、すなわち本発明の化合物を無菌の水性液もしくは油性液に溶解、懸濁または乳化することによって調製される。注射用の水性液としては生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などがあげられ、適当な溶解補助剤、たとえばアルコール（たとえばエタノール）、ポリアルコール（たとえばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（たとえばポリソルベート80、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としてはゴマ油、大豆油などがあげられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。また、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）などと配合してもよい。調製された注射液は通常、

適当なアンフルに充填される。また、場合により経口的に投与されることもある。粉末剤、錠剤、顆粒剤、カプセル剤などの経口用製剤を製造する場合は、薬学的に許容される担体を配合することができる。該担体としては、賦形剤（例えば、乳糖、デンプンなど）、滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルクなど）、結合剤（ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マクロゴールなど）、崩壊剤（例えば、デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウムなど）などが用いられる。また、必要に応じて、防腐剤（例えば、ベンジルアルコール、クロロブタノール、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸プロピルなど）、抗酸化剤、着色剤、甘味剤などの添加物を用いることができる。本発明のペプチドの投与量は成人の場合、注射剤の場合、1回あたり50ng～5mg、好ましくは20～300μgで1～3日に1回の投与が適当である。本発明のペプチドの濃度は注射剤では10～100μg/mlが適当である。また、経皮吸収剤として用いる場合、イオントフォoresisで皮膚から吸収させることができ、1回あたり50ng～5mg、好ましくは20μg～1mg、より好ましくは20μg～400μgで1日3回から3日に1回の投与が適当である。

【0057】本発明明細書において、アミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL-体を示すものとする。

Gly またはG : グリシン  
 Ala またはA : アラニン  
 Val またはV : バリン  
 Leu またはL : ロイシン  
 Ile またはI : イソロイシン  
 Ser またはS : セリン  
 Thr またはT : スレオニン  
 Cys またはC : システイン  
 Met またはM : メチオニン  
 Glu またはE : グルタミン酸  
 Asp またはD : アスパラギン酸  
 Lys またはK : リジン  
 Arg またはR : アルギニン  
 His またはH : ヒスチジン  
 Phe またはF : フェニールアラニン  
 Tyr またはY : チロシン  
 Trp またはW : トリプトファン  
 Pro またはP : プロリン  
 Asn またはN : アスパラギン  
 Gln またはQ : グルタミン  
 Nle : ノルロイシン  
 Orn : オルニチン

Gla : 4-カルボキシルグルタミン酸  
 Ala(2-Naph) : 2-ナフチルアラニン  
 Aad : 2-アミノアジピン酸  
 Asu : 2-アミノスベリン酸  
 Aib : 2-アミノイソ酪酸  
 hPTH : ヒトPTH

#### 【0058】

【作用】hPTH(1-34)に本発明のような置換を行なうことによって強いPTH作用を示す誘導体を得られる。まず10位のアミノ酸を酸性アミノ酸とする事で活性の昇が見られ、さらに11位、13位、14位、15位、16位、17位、19位、21位、26位、27位、30位の置換と組み合わせることによりこの作用は保持、もしくは増強される。12位のD-アミノ酸の置換では種々の蛋白質分解酵素に対する抵抗性が増し、血中での活性の持続性が得られる。

#### 【0059】

【実施例】以下に、実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、ここに挙げた代表的なアミノ酸置換の例は本発明を制限するものと解釈されるべきではない。

〔実施例1〕 PTHペプチド(1-34)誘導体の合成と精製

本ペプチドの合成はメリフィールドらにより開発されたペプチドの固相合成法(R. B. Merrifield, アドバンシズ イン エンザイモロジー(Adv. Enzymol) 32巻、221-296頁 1969年)の変法に順じて行われ、自動ペプチド合成機430A(アプライドバイオシステムズ社)を用いた。保護ペプチド樹脂の合成はアプライドバイオシステムズ社指定のプロトコルを用いた。カルボキシル末端が遊離カルボン酸の誘導体を得る場合には保護アミノ酸-pオキシメチルフェニルアセトアミドメチル樹脂(ポリスチレン-1%ジビニルベンゼン)を、またカルボキシルアミドの誘導体を得る場合には4-メチルベンズヒドリル樹脂を出発原料とし、これに逐次保護アミノ酸を縮合させた、縮合時に各アミノ酸のα-アミノ基を保護するため、三級ブトキシカルボニル(BOC)基を用いた。側官能基保護は次のように行なった。セリンとスレオニンのヒドロキシル基はO-ベンジルエーテルとして、チロシンのヒドロキシル基はp-ブロモベンジルオキシカルボニルエステルとして、グルタミン酸及びアスパラギン酸のカルボキシル基はベンジルエステルとして、ヒスチジンのイミダゾール窒素はベンジルオキシメチルによって、リジンの側鎖アミノ基は2-クロロベンジルオキシカルボニルで、オルニチンの側鎖アミノ基はベンジルオキシカルボニルで、アルギニンのグアニジン官能基はp-トルエンスルホニル基で、トリプトファンのインドールイミンはホルミル基で保護した。すべてのアミノ酸は、アプライド・バイオシステムズジャパン社、ノバ・バイオケム社又はバチェム・ケミカルズから入手した。樹脂上に全てのアミノ酸を

縮合した後、保護ペプチド樹脂を合成機から取り出し、乾燥した。ペプチド樹脂(1g)を、p-クレゾール(1ml)、1,2-エタンジチオール(1ml)、2-メルカプトヒリジン(100mg)を含んだ、無水フッ化水素(8ml)と、0℃で2時間反応させた。反応終了後、フッ化水素を留去し、残留物をジエチルエーテルで洗浄し、大部分の混合試薬を除去した。ペプチドを3%酢酸(10ml)で抽出し、汙過により樹脂を除いた。汙液をセファデックスG-25を用いるゲル汉過により精製した。ゲル汉過の条件は、カラムサイズ2.6×66cm、検出波長280nm、溶媒3%酢酸、流速30ml/時間であった。ペプチドを含むフラクションを集めて凍結乾燥し、得られた粉末標品をさらに逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で精製した。カラムYMC-パック R&D D-ODS-5 S-5 120A ODS(20×250mm)溶出溶媒A、0.1%トリフルオロ酢酸-99.9%水;溶出溶媒B、0.1%トリフルオロ酢酸-99.9%アセトニトリル;溶出濃度勾配プログラム、0分(80%A+20%B)、30分(50%A+50%B)(但し必要ならば他の溶出プログラムを用いることもある。)溶出速度5.0ml/分、検出波長230または280nm。純粋な目的物を含むピーク画分を集めてバイオラッドAG1×8(酢酸型、2.5×2cm)のカラムに通し、洗液も集めアセトニトリルを留去した後、凍結乾燥した。自動ペプチド合成はα-アミノ基の保護基に9-フルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)基を用いる方法によってもなされた。この方法では自動ペプチド合成機431A(アプライドバイオシステムズ社)を用いた。保護ペプチド樹脂の合成はアプライドバイオシステムズ社指定のプロトコルを用いた。カルボキシル末端が遊離カルボン酸の誘導体を得るため保護アミノ酸-p-アルコキシベンジルアルコール樹脂を出発原料とし、これに逐次保護アミノ酸を縮合させた。縮合時に各アミノ酸のα-アミノ基を保護するため、9-フルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)基を用いた。側鎖官能基保護は次のように行った。セリン、スレオニン及びチロシンのヒドロキシル基はO-三級ブチルエーテルとして、側鎖カルボキシル基は三級ブチルエステルとして、ヒスチジンのイミダゾール窒素はトリチル基で、リジンなどの側鎖アミノ基は三級ブトキシカルボニル基で、アルギニンのグアニジン官能基は2,2,5,7,8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル基で保護した。保護アミノ酸樹脂は渡辺化学工業から、アミノ酸は渡辺化学工業、ペプチド研究所、アプライド・バイオシステムズジャパン社、ノバ・バイオケム社及びバチエム・ケミカルズから入手した。樹脂上に全てのアミノ酸を縮合し、N末端のFmoc基を除去した後、保護ペプチド樹脂を合成機から取り出し、乾燥した。ペプチド樹脂(0.5g)に結晶フェノール(0.375g)、1,2-エタンジチオール(0.125ml)、チオアニソ

ール(0.25ml)、蒸留水(0.25ml)及びトリフルオロ酢酸(5ml)を氷冷下順次添加し、その後室温に戻して2時間反応させた。反応終了後、トリフルオロ酢酸を留去し、残留物をジエチルエーテルで洗浄し、大部分の混合試薬を除去した。ペプチドを30%酢酸(7ml)で抽出し、汉過により樹脂を除いた。汉液をセファデックスG-25を用いるゲル汉過にて精製した。ゲル汉過およびそれにつづく逆相HPLCによる精製は先に記したのと同様の方法で行った。

【0060】このようにして得たペプチド(1)~(25)は以下の通りである。

- (1) [Asp<sup>10</sup>, Lys<sup>11</sup>] hPTH(1-34)  
(配列番号: 8)
- (2) [Asp<sup>10</sup>, Lys<sup>11</sup>, D-Trp<sup>12</sup>] hPTH(1-34)
- (3) [Asp<sup>10</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 9)
- (4) [Glu<sup>10</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 10)
- (5) [Asp<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>] hPTH(1-34)  
(配列番号: 11)
- (6) [Asp<sup>10</sup>, Ala(2-Naph)<sup>11</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 12)
- (7) [Glu<sup>10</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 13)
- (8) [Asu<sup>10</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 14)
- (9) [Aad<sup>10</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 15)
- (10) [Glu<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, D-Ala<sup>12</sup>] hPTH(1-34)
- (11) [Glu<sup>10</sup>, D-Ser<sup>12</sup>] hPTH(1-34)
- (12) [Glu<sup>10</sup>, Lys<sup>16,17</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 16)
- (13) [Glu<sup>10</sup>, Lys<sup>17</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 17)
- (14) [Glu<sup>10</sup>, Lys<sup>16</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 18)
- (15) [Glu<sup>10</sup>, Ser<sup>16</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 19)
- (16) [Glu<sup>10</sup>, Lys<sup>16</sup>, Gln<sup>27</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 20)
- (17) [Glu<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, Lys<sup>16</sup>, Gln<sup>27</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 21)
- (18) [Asp<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, Lys<sup>16</sup>, Gln<sup>27</sup>, Aib<sup>30</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 22)
- (19) [Asp<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, Lys<sup>16,17</sup>, Gln<sup>27</sup>, Aib<sup>30</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 23)

(20) [Asp<sup>10</sup>, Phe<sup>11</sup>, Lys<sup>15,16</sup>, Gln<sup>27</sup>, Aib<sup>30</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 24)

(21) [Glu<sup>10</sup>, Lys<sup>14</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 25)

(22) [Glu<sup>10</sup>, Orn<sup>13</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 26)

(23) [Asp<sup>10</sup>, Arg<sup>19</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 27)

(24) [Asp<sup>10</sup>, Arg<sup>21</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 28)

(25) [Glu<sup>10</sup>, Arg<sup>26</sup>] hPTH(1-34) (配列番号: 29)

このペプチドの一覧表を〔表1〕に、そのアミノ酸分析結果ならびに逆相高速液体クロマトグラフィーにおける保持時間を〔表2-1〕～〔表2-5〕に示す。なお、〔表2〕中のa, b, cは以下の通りである。

a: 4%チオグリコール酸存在下、6規定塩酸で減圧封管中、110℃、24時間加水分解後アミノ酸分析に付した。カッコ内は理論値。

b: 被験化合物(末尾に何も付いていないのはカルボン酸タイプである):

c: 誘導体の高速液体クロマトグラフィーによる保持時間。分析条件: ウォーターズ社 M600E高速液体クロマトグラムにウォーターズ社717plusオートサンプラーを連結して用いた。カラムTMC-pack R&D R-ODS-5 S-5 120A(4.6×250mm); 溶出溶媒A, 0.1%トリフルオロ酢酸-99.9%水; 溶出溶媒B, 0.1%トリフルオロ酢酸-99.9%アセトニトリル; 溶出濃度プログラム, 0分(80%A+20%B), 30分(50%A+50%B); 流速1.0ml/分; 検出波長230nm。

【0061】

【表1】

【0062】

【表2-1】

変換基名	(10) R <sub>1</sub>	(11) R <sub>2</sub>	(12) R <sub>3</sub>	(13) R <sub>4</sub>	(14) R <sub>5</sub>	(15) R <sub>6</sub>	(15-17) R <sub>7</sub>	(19) R <sub>8</sub>	(21) R <sub>9</sub>	(26) R <sub>10</sub>	(27) R <sub>11</sub>	(30) R <sub>12</sub>	(34) R <sub>13</sub>
変換基名	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>9</sub>	R <sub>10</sub>	R <sub>11</sub>	R <sub>12</sub>	R <sub>13</sub>
変換基名	Asn	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Asn-Ser	Glu	Val	Lys	Lys	Asp	Phe
変換基名	Asp	Lys											
変換基名	Asp	Lys	D-Trp										
変換基名	Asp												
変換基名	Glu												
変換基名	Asp	Phe											
変換基名	Asp	Ala(2-Naph)											
変換基名	Glu												
変換基名	Asn												
変換基名	Asd												
変換基名	Glu	Phe	D-Ala										
変換基名	Glu		D-Ser										
変換基名	Glu						Lys-Lys						
変換基名	Glu						Asn-Lys						
変換基名	Glu						Lys-Ser						
変換基名	Glu						Ser-Ser						
変換基名	Glu						Lys-Ser				Gln		
変換基名	Glu	Phe					Lys-Ser				Gln		
変換基名	Asp	Phe					Lys-Ser				Gln	Aib	
変換基名	Asp	Phe					Lys-Lys				Gln	Aib	
変換基名	Asp	Phe				Lys	Lys-Ser				Gln	Aib	
変換基名	Glu				Lys								
変換基名	Glu			Orn									
変換基名	Asp							Arg					
変換基名	Asp								Arg				
変換基名	Glu									Arg			



アミノ酸	PTH (1-34) 誘導体のアミノ酸組成 (a)					
	誘導体ペプチド (b)					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Asx	4.00 (4)	4.00 (4)	4.00 (4)	3.00 (3)	4.00 (4)	4.00 (4)
Ser	2.73 (3)	2.71 (3)	2.21 (3)	2.15 (3)	2.69 (3)	2.43 (3)
Glx	5.26 (5)	5.28 (5)	5.75 (5)	7.08 (6)	5.72 (5)	5.76 (5)
Gly	1.02 (1)		1.07 (1)	0.98 (1)	0.98 (1)	1.00 (1)
Val	2.75 (3)	2.76 (3)	2.76 (3)	2.70 (3)	2.70 (3)	2.71 (3)
Met	1.99 (2)	2.00 (2)	1.79 (2)	1.74 (2)	1.80 (2)	1.79 (2)
Ile	0.94 (1)	0.91 (1)	0.81 (1)	0.78 (1)	0.81 (1)	0.83 (1)
Leu	3.99 (4)	3.97 (4)	5.04 (5)	4.99 (5)	3.99 (4)	4.02 (4)
Phe	0.98 (1)	0.99 (1)	0.94 (1)	0.95 (1)	1.94 (2)	0.96 (1)
Lys	3.89 (4)	3.92 (4)	2.93 (3)	2.89 (3)	2.91 (3)	2.96 (3)
His	2.86 (3)	2.95 (3)	2.68 (3)	2.68 (3)	2.70 (3)	2.72 (3)
Trp	0.91 (1)	*1.87 (2)	0.81 (1)	0.74 (1)	0.81 (1)	0.81 (1)
Arg	1.83 (2)	1.80 (2)	1.79 (2)	1.78 (2)	1.77 (2)	1.80 (2)
その他の アミノ酸		*内1残基は D-Trp				Ala (2-Naph) N. D.
HPLC保持時間 (分) (C)	22.3	23.4	25.9	25.8	25.6	26.9

【0063】

【表2-2】

アミノ酸	誘導体ペプチド (b)					
	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)
Asx	3.00 (3)	3.00 (3)	3.00 (3)	3.00 (3)	3.00 (3)	2.00 (2)
Ser	2.64 (3)	2.65 (3)	2.60 (3)	2.63 (3)	*3.51 (3)	1.72 (2)
Glx	*6.03 (5)	5.01 (5)	4.99 (5)	5.97 (6)	5.98 (6)	6.00 (6)
Gly	0.99 (1)	0.99 (1)	1.01 (1)			1.01 (1)
Val	2.83 (3)	2.88 (3)	2.87 (3)	2.79 (3)	2.75 (3)	2.63 (3)
Met	1.97 (2)	1.82 (2)	1.97 (2)	1.89 (2)	1.91 (2)	2.20 (2)
Ile	0.94 (1)	0.94 (1)	0.95 (1)	0.98 (1)	0.97 (1)	0.95 (1)
Leu	5.13 (5)	5.11 (5)	5.11 (5)	3.95 (4)	4.93 (5)	4.97 (5)
Phe	0.97 (1)	1.00 (1)	0.98 (1)	1.94 (2)	0.96 (1)	0.99 (1)
Lys	3.27 (3)	3.23 (3)	3.25 (3)	3.01 (3)	3.00 (3)	4.90 (5)
His	2.81 (3)	2.82 (3)	2.81 (3)	2.72 (3)	2.74 (3)	2.63 (3)
Trp	0.85 (1)	*0.91 (1)	0.91 (1)	0.93 (1)	0.92 (1)	0.95 (1)
Arg	1.89 (2)	1.94 (2)	1.98 (2)	1.96 (2)	1.95 (2)	1.99 (2)
その他の アミノ酸	*Gla (1) Glx の位置に 溶出	Asu (1) Met-Ile間に 溶出	Aad (1) Glx-Gly間に 溶出	D-Ala 1.02 (1)	*内1残基は D-Ser	
HPLC保持時間 (分) (C)	26.3	26.0	26.0	25.9	24.9	25.7

【0064】

【表2-3】

## アミノ酸

	(13)	(14)	(15)	(16)	(17)
Asx	3.00 (3)	2.00 (2)	2.00 (2)	2.00 (2)	2.00 (2)
Ser	1.75 (2)	2.60 (3)	3.53 (4)	2.34 (3)	2.34 (3)
Glx	6.06 (6)	6.03 (6)	6.00 (6)	7.02 (7)	7.05 (7)
Gly	1.02 (1)	1.02 (1)	1.02 (1)	0.98 (1)	0.98 (1)
Val	2.65 (3)	2.63 (3)	2.66 (3)	2.71 (3)	2.72 (3)
Met	2.22 (2)	2.20 (2)	1.86 (2)	2.22 (2)	2.22 (2)
Ile	0.96 (1)	0.95 (1)	0.93 (1)	0.93 (1)	0.94 (1)
Leu	5.01 (5)	4.97 (5)	4.70 (5)	4.94 (5)	3.96 (4)
Phe	1.01 (1)	0.99 (1)	0.90 (1)	0.99 (1)	1.97 (2)
Lys	3.98 (4)	3.96 (4)	3.01 (3)	2.85 (3)	2.87 (3)
His	2.65 (3)	2.63 (3)	2.60 (3)	2.77 (3)	2.77 (3)
Trp	0.96 (1)	0.94 (1)	0.93 (1)	0.93 (1)	0.91 (1)
Arg	2.01 (2)	2.01 (2)	1.96 (2)	1.92 (2)	1.92 (2)

その他の

アミノ酸

## HPLC保持時間

(分) (C)	25.3	26.4	26.3	26.6	26.3
---------	------	------	------	------	------

【0065】

【表2-4】

## アミノ酸

	(18)	(19)	(20)	(21)	(22)
Asx	2.00 (2)	2.00 (2)	2.00 (2)	3.00 (3)	3.00 (3)
Ser	2.66 (3)	1.78 (2)	2.65 (3)	2.34 (3)	2.55 (3)
Glx	6.75 (6)	6.67 (6)	6.65 (6)	6.04 (6)	6.00 (6)
Gly	1.05 (1)	1.05 (1)	1.06 (1)	1.04 (1)	1.02 (1)
Val	2.96 (3)	2.91 (3)	2.92 (3)	2.71 (3)	2.69 (3)
Met	1.99 (2)	1.93 (2)	1.94 (2)	1.91 (2)	1.89 (2)
Ile	1.02 (1)	1.00 (1)	1.01 (1)	0.95 (1)	0.94 (1)
Leu	4.21 (4)	4.14 (4)	3.12 (3)	4.80 (5)	4.76 (5)
Phe	2.24 (2)	2.20 (2)	2.21 (2)	0.92 (1)	0.92 (1)
Lys	3.07 (3)	4.02 (4)	3.97 (4)	4.07 (4)	2.02 (2)
His	2.84 (3)	2.82 (3)	2.77 (3)	1.76 (2)	2.63 (3)
Trp	0.99 (1)	1.01 (1)	0.95 (1)	0.94 (1)	0.85 (1)
Arg	2.00 (2)	1.97 (2)	1.98 (2)	2.00 (2)	1.97 (2)

その他の

アミノ酸

Aib (1) Aib (1) Aib (1) Orn

## HPLC保持時間

(分) (C)	26.9	26.2	24.2	26.1	25.9
---------	------	------	------	------	------

【0066】

【表2-5】

## アミノ酸

	(23)	(24)	(25)
Asx	4.00 (4)	4.00 (4)	3.00 (3)
Ser	2.20 (3)	2.43 (3)	2.32 (3)
Glx	3.93 (4)	4.99 (5)	6.05 (6)
Gly	0.98 (1)	0.99 (1)	0.98 (1)
Val	2.67 (3)	1.81 (2)	2.72 (3)
Met	1.92 (2)	1.95 (2)	2.22 (2)
Ile	0.92 (1)	0.95 (1)	0.93 (1)
Leu	4.80 (5)	4.90 (5)	4.95 (5)
Phe	0.95 (1)	0.96 (1)	1.00 (1)
Lys	2.98 (3)	3.04 (3)	1.92 (2)
His	2.77 (3)	2.83 (3)	2.77 (3)
Trp	0.88 (1)	0.94 (1)	0.89 (1)
Arg	2.90 (3)	2.96 (3)	2.80 (3)

その他の  
アミノ酸

## HPLC保持時間

(分) (C)	25.2	24.1	26.0
---------	------	------	------

【0067】〔実施例2〕PTHペプチド(1-34位)誘導体のin vitroにおける生物活性の測定  
PTH部分ペプチド(1-34位)類縁体の生物活性をシゲノら、ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケ  
化合物

化合物	cAMP増加量(pmol/well)
(6) [Asp <sup>10</sup> , Ala(2-Naph) <sup>11</sup> ]hPTH(1-34)	2.65
(3) [Asp <sup>10</sup> ]hPTH(1-34)	0.60
(4) [Glu <sup>10</sup> ]hPTH(1-34)	1.81
(5) [Asp <sup>10</sup> , Phe <sup>11</sup> ]hPTH(1-34)	2.58

【0069】〔実施例3〕PTHペプチド(1-34位)誘導体の生物活性の測定  
実施例1で合成した化合物4.9nmol/kgを毎日、2週間、4週令オス Sprague Dawley ラットに皮下投与し、その大腿骨における骨量の増加を、vehicle (0.15M食塩, 0.001N塩酸, 熱不活性化2%

ミストリー、第263巻、第18369~18377頁、1980年〔Shigenoら、The Journal of Biological Chemistry, 263:18369-18377(1988)〕により報告された方法を修正して評価した。96穴マルチ・プレート〔ヌンクロン(Nunc)〕上で培養したマウス頭蓋骨由来骨芽細胞様細胞株、MC3T3-E1細胞に、0.01、0.1、1、10あるいは100nMのペプチド誘導体を含む、100μlの培養液〔20mMのN-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸(HEPES)、0.1%牛血清アルブミン(BSA)および0.5mMのイソブチルメチルキサンチンを含む、Hank's液〕を加え、30分間室温で反応させた。0.2規定度の塩酸100μlを加えた後、沸騰水中に2分半浸し、PTH受容体によって産生されたサイクリック・アデノシン・1リン酸(cAMP)を細胞から抽出した。培養液中および細胞内の総cAMP測定は、市販のラジオイムノアッセイキット〔サイクリックAMP〔<sup>125</sup>I〕キット デュボン-第一、第一化学薬品〕を用いて行なった。PTHペプチド(1-34位)誘導体の生物活性については、類縁体1nMでもたらされるcAMPの増加量を表3に示した。

【0068】

【表3】

ラット血清)投与群と比較した。投与後、右大腿骨を取り出し、まわりの組織を除き、100℃3時間乾燥し、秤量した。化合物4.9nmol/kgを毎日投与したラットにおける骨量の増加を表4に示した。

【0070】

【表4】

化合物	骨増加量(mg)
(3) [Asp <sup>10</sup> ]hPTH(1-34)	26.1
(4) [Glu <sup>10</sup> ]hPTH(1-34)	31.1
(5) [Asp <sup>10</sup> , Phe <sup>11</sup> ]hPTH(1-34)	20.4
(19) [Asp <sup>10</sup> , Phe <sup>11</sup> , Lys <sup>16, 17</sup> , Gln <sup>27</sup> , Alb <sup>30</sup> ]hPTH(1-34)	16.9
(10) [Glu <sup>10</sup> , Phe <sup>11</sup> , D-Ala <sup>12</sup> ]hPTH(1-34)	19.4
(22) [Glu <sup>10</sup> , Orn <sup>13</sup> ]hPTH(1-34)	14.8
(15) [Glu <sup>10</sup> , Ser <sup>16</sup> ]hPTH(1-34)	15.1
(17) [Glu <sup>10</sup> , Phe <sup>11</sup> , Lys <sup>16</sup> , Gln <sup>27</sup> ]hPTH(1-34)	12.4
(1) [Asp <sup>10</sup> , Lys <sup>11</sup> ]hPTH(1-34)	66.6*

\* : 4週間連続投与した時の増加量

## 【0071】

【発明の効果】本発明の新規なPTH(1-34)誘導体は、強いcAMP産生活性及び骨形成活性を有し、骨疾患等に対して有用な医薬となり得る。

## 【0072】

## 【配列表】

## 【0073】

## 配列:

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Asn	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Asn
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25						30	
Asn	Phe														

## 【0074】

## 【配列番号:2】

配列の長さ:34

配列の型:アミノ酸

トポロジー:直鎖状

配列の種類:ペプチド

配列の特徴:

存在位置:10

他の情報:Xaa=酸性アミノ酸、

存在位置:11

他の情報:Xaa=疎水性α-アミノ酸、塩基性アミノ酸

存在位置:12

他の情報:Xaa=Gly, Ala, Ser, Lys, Orn

存在位置:13

他の情報:Xaa=塩基性アミノ酸

存在位置:14

他の情報:Xaa=塩基性アミノ酸

存在位置:15

他の情報:Xaa=脂肪族中性アミノ酸、塩基性アミノ酸

存在位置:16,17

## 【配列番号:1】

配列の長さ:34

配列の種類:ペプチド

トポロジー:直鎖状

配列の型:アミノ酸

配列の特徴:部分ペプチド

他の情報:Xaa=非荷電親水性アミノ酸-塩基性アミノ酸

存在位置:19

他の情報:Xaa=酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸

存在位置:21

他の情報:Xaa=脂肪族中性アミノ酸、塩基性アミノ酸

存在位置:26

他の情報:Xaa=塩基性アミノ酸

存在位置:27

他の情報:Xaa=非荷電親水性アミノ酸、塩基性アミノ酸

存在位置:30

他の情報:Xaa=酸性アミノ酸、脂肪族中性アミノ酸

存在位置:34

他の情報:Xaa=芳香族アミノ酸, Phe-Val, Phe-Val-Ala, Phe-Val-Ala-Leu, Phe-Val-Ala-Leu-Gly, Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala, Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro, Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro-Leu-Ala-Pro-Arg-Asp-Ala-Gly-Ser-Gln-Arg-Pro-Arg-Lys-Lys-Glu-Asp-Asn-Val-Leu-Val-Glu-Ser-His-Glu-Lys-Ser-Leu-Gly-Glu-Ala-Asp-Lys-Ala-Asp-Val-Asn-Val-Leu-Thr-Lys-Ala-Lys-Ser-Gln

配列:

```

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1           5           10           15
Xaa Met Xaa Arg Xaa Glu Trp Leu Arg Xaa Xaa Leu Gln Xaa Val His
           20           25           30
Asn Xaa
      34

```

【 0 0 7 5 】

【配列番号: 3】

配列の長さ: 4

配列の種類: ペプチド

トポロジー: 直鎖状

配列の型: アミノ酸

配列の特徴: 部分ペプチド

配列:

Phe Val Ala Leu

1

【 0 0 7 6 】

【配列番号: 4】

配列の長さ: 5

配列の種類: ペプチド

トポロジー: 直鎖状

配列の型: アミノ酸

配列の特徴: 部分ペプチド

配列:

Phe Val Ala Leu Gly

1

5

【 0 0 7 7 】

【配列番号: 5】

配列の長さ: 6

配列の種類: ペプチド

配列:

```

Phe Val Ala Leu Gly Ala Pro Leu Ala Pro Arg Asp Ala Gly Ser Gln
 1           5           10           15
Arg Pro Arg Lys Lys Glu Asp Asn Val Leu Val Glu Ser His Glu Lys
           20           25           30
Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asn Val Leu Thr Lys Ala
           35           40           45
Lys Ser Gln
      50

```

【 0 0 8 0 】

【配列番号: 8】

配列の長さ: 34

配列の種類: ペプチド

配列:

```

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asp Lys Gly Lys His Leu Asn
 1           5           10           15
Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His
           20           25           30
Asn Phe

```

トポロジー: 直鎖状

配列の型: アミノ酸

配列の特徴: 部分ペプチド

配列:

Phe Val Ala Leu Gly Ala

1

5

【 0 0 7 8 】

【配列番号: 6】

配列の長さ: 7

配列の種類: ペプチド

トポロジー: 直鎖状

配列の型: アミノ酸

配列の特徴: 部分ペプチド

配列:

Phe Val Ala Leu Gly Ala Pro

1

5

【 0 0 7 9 】

【配列番号: 7】

配列の長さ: 51

配列の種類: ペプチド

トポロジー: 直鎖状

配列の型: アミノ酸

配列の特徴: 部分ペプチド

トポロジー: 直鎖状

配列の型: アミノ酸

配列の特徴: 部分ペプチド

## 【 0 0 8 1 】

【配列番号：9】

配列の長さ：34

配列の種類：ペプチド

トポロジー：直鎖状

配列の型：アミノ酸

配列の特徴：部分ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Asp	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Asn
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25						30	
Asn	Phe														

## 【 0 0 8 2 】

【配列番号：10】

配列の長さ：34

配列の種類：ペプチド

トポロジー：直鎖状

配列の型：アミノ酸

配列の特徴：部分ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Glu	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Asn
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25						30	
Asn	Phe。														

## 【 0 0 8 3 】

【配列番号：11】

配列の長さ：34

配列の種類：ペプチド

トポロジー：直鎖状

配列の型：アミノ酸

配列の特徴：部分ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Asp	Phe	Gly	Lys	His	Leu	Asn
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25						30	
Asn	Phe														

## 【 0 0 8 4 】

【配列番号：12】

配列の長さ：34

配列の種類：ペプチド

トポロジー：直鎖状

配列の型：アミノ酸

配列の特徴：部分ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Asp	Xaa	Gly	Lys	His	Leu	Asn
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25						30	
Asn	Phe														

配列の特徴：

存在位置：11

他の情報：Xaa=Ala (2-Naph)

配列の長さ：34

配列の種類：ペプチド

トポロジー：直鎖状

## 【 0 0 8 5 】

【配列番号：13】

配列の型：アミノ酸

配列の特徴：部分ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Gla	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Asn
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25						30	

Asn Phe

【 0 0 8 6 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：14】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Asu	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Asn
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25					30		

Asn Phe

【 0 0 8 7 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：15】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Aad	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Asn
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25					30		

Asn Phe

【 0 0 8 8 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：16】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Glu	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Lys
1				5					10					15	
Lys	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25					30		

Asn Phe

【 0 0 8 9 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：17】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Glu	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Asn
1				5					10					15	
Lys	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25					30		

Asn Phe

【 0 0 9 0 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：18】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Glu	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Lys
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25					30		

Asn Phe

【 0 0 9 1 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：19】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Glu	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Ser
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Lys	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25					30		

Asn Phe

【 0 0 9 2 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：20】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Glu	Leu	Gly	Lys	His	Leu	Lys
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Gln	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25					30		

Asn Phe

【 0 0 9 3 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：21】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Glu	Phe	Gly	Lys	His	Leu	Lys
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Gln	Leu	Gln	Asp	Val	His
			20					25					30		

Asn Phe

【 0 0 9 4 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：22】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Asp	Phe	Gly	Lys	His	Leu	Lys
1				5					10					15	
Ser	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Gln	Leu	Gln	Aib	Val	His
			20					25					30		

Asn Phe

【 0 0 9 5 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：23】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Leu	Met	His	Asp	Phe	Gly	Lys	His	Leu	Lys
1				5					10					15	
Lys	Met	Glu	Arg	Val	Glu	Trp	Leu	Arg	Lys	Gln	Leu	Gln	Aib	Val	His



Asn Phe 20 25 30

【 0 0 9 6 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：24】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asp Phe Gly Lys His Lys Lys  
1 5 10 15  
Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Gln Leu Gln Aib Val His  
20 25 30

Asn Phe

【 0 0 9 7 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：25】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Glu Leu Gly Lys Lys Leu Asn  
1 5 10 15  
Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His  
20 25 30

Asn Phe

【 0 0 9 8 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：26】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Glu Leu Gly Orn His Leu Asn  
1 5 10 15  
Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His  
20 25 30

Asn Phe

【 0 0 9 9 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：27】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asp Leu Gly Lys His Leu Asn  
1 5 10 15  
Ser Met Arg Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His  
20 25 30

Asn Phe

【 0 1 0 0 】

トポロジー：直鎖状

【配列番号：28】

配列の型：アミノ酸

配列の長さ：34

配列の特徴：部分ペプチド

配列の種類：ペプチド

配列：

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asp Leu Gly Lys His Leu Asn  
1 5 10 15  
Ser Met Glu Arg Arg Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His

20                      25                      30  
 Asn Phe  
 【 0 1 0 1 】                      トポロジー：直鎖状  
 【配列番号：29】                      配列の型：アミノ酸  
 配列の長さ：34                      配列の特徴：部分ペプチド  
 配列の種類：ペプチド  
 配列：  
 Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Glu Leu Gly Lys His Leu Asn  
 1                      5                      10                      15  
 Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Arg Lys Leu Gln Asp Val His  
 20                      25                      30  
 A s n   P h e